



(12) **EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT**

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Patenterteilung:
01.03.2006 Patentblatt 2006/09

(51) Int Cl.:
C12N 15/53 ^(2006.01) **C12N 9/04** ^(2006.01)
C12Q 1/60 ^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: **94915569.1**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP1994/001394

(22) Anmeldetag: **02.05.1994**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 1994/025603 (10.11.1994 Gazette 1994/25)

(54) **CHOLESTERINOXIDASE AUS BREVIBACTERIUM STEROLICUM**
CHOLESTEROL-OXIDASE FROM BREVIBACTERIUM STEROLICUM
CHOLESTEROL-OXYDASE DU BREVIBACTERIUM STEROLICUM

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL PT SE

(56) Entgegenhaltungen:
EP-A- 0 452 112 **EP-A- 0 560 983**

(30) Priorität: **05.05.1993 DE 4314793**
09.12.1993 DE 4342012

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
28.02.1996 Patentblatt 1996/09

(73) Patentinhaber: **Roche Diagnostics GmbH**
68305 Mannheim (DE)

(72) Erfinder: **JARSCH, Michael**
D-83670 Bad Heilbrunn (DE)

- **GENE. Bd. 103 , 1991 , AMSTERDAM NL** Seiten 93 - 96 T. OHTA ET AL 'Sequence of gene choB encoding cholesterol oxidase of Brevibacterium sterolicum: comparison with choA of Streptomyces sp. SA-COO' In der Anmeldung erwähnt
- **BIOSCIENCE, BIOTECHNOLOGY, AND BIOCHEMISTRY Bd. 56, Nr. 11 , November 1992** Seiten 1786 - 1791 T. OHTA ET AL 'Hyperexpression and analysis of choB encoding cholesterol oxidase of Brevibacterium sterolicum In Escherichia coli and Streptomyces lividans' In der Anmeldung erwähnt

EP 0 698 102 B1

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*, ein Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*, eine für dieses Verfahren geeignete DNA-Sequenz, welche eine zytoplasmatische Expression der rekombinanten Cholesterinoxidase im Wirtsbakterium bewirkt, sowie die so erhältliche rekombinante Cholesterinoxidase.

[0002] Für die enzymatische Bestimmung von Cholesterin ist die Cholesterinoxidase von großer Bedeutung. Sie katalysiert die Oxidation von Cholesterin zu Cholesten-3-on und H_2O_2 . Cholesterinoxidase aus verschiedenen Organismen wie *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Arthrobacter* und *Brevibacterium* sind bereits beschrieben worden (T. Uwajima et al., *Agr. Biol. Chem.* 37 (1973), 2345 - 2350). Alle diese bekannten Cholesterinoxidasen sind sezernierte Proteine. Das Bodenbakterium *Brevibacterium sterolicum* KY 3643 (ATCC 21387) zeigt eine besonders hohe Aktivität der Cholesterinoxidase. Aus diesem Bakterium sind drei Isoenzyme der Cholesterinoxidase bekannt, die sich in ihrem isoelektrischen Punkt, der Substratspezifität gegenüber verschiedenen Steroiden, der Affinität gegenüber Cholesterin im pH-Optimum und der DNA bzw. Aminosäuresequenz unterscheiden (EP-A 0 452 112 und EP-A 560 983). Die Cholesterinoxidase I aus *Brevibacterium sterolicum* zeigt eine geringe Affinität zu Cholesterin (K_M $1,1 \times 10^{-3}$ mol/l) und ist aus *Brevibacterium sterolicum* nur in geringer Ausbeute erhältlich. Die Expression einer kompletten für die Cholesterinoxidase I kodierenden DNA in *E. coli* wurde bereits versucht, ist jedoch bislang nicht gelungen (K. Fujishiro et al., *Biochem. Biophys. Res. Com.* 172 (1990), 721 - 727, T. Ohta et al., *Gene* 103 (1991), 93 - 96). Auch die Expression spezieller Deletionsmutanten der für die Cholesterinoxidase I kodierenden DNA, welche mit Teilen des lac z Gens fusioniert wurden, führte zu keiner befriedigenden Expression in *E. coli* (T. Ohta et al., *Biosci. Biotech. Biochem.* 56 (1992), 1786 - 1791). In der EP-A 0 452 112 wird die Klonierung und Expression von weiteren Cholesterinoxidasen aus *Brevibacterium sterolicum* beschrieben. Die Expression dieser DNAs führt jedoch ebenfalls nicht zu einer ausreichenden Menge an aktiver Cholesterinoxidase.

[0003] Aufgabe der Erfindung war es, eine Cholesterinoxidase mit hoher Affinität zu Cholesterin in großen Mengen und in aktiver Form zur Verfügung zu stellen.

[0004] Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Cholesterinoxidase, welche die in SEQ ID NO 2 gezeigte Aminosäuresequenz aufweist. Diese Cholesterinoxidase ist aus *Brevibacterium sterolicum* erhältlich oder auch rekombinant herstellbar.

[0005] Es hat sich überraschenderweise gezeigt, daß eine derartige Cholesterinoxidase rekombinant in großer Menge und in aktiver Form hergestellt werden kann. Diese Cholesterinoxidase weist ein Molekulargewicht von 60 kD, einen isoelektrischen Punkt von ca. 5,5 (jeweils gemessen im Phast-System, Pharmacia-LKB) sowie einen K_M -Wert für Cholesterin von 1×10^{-4} mol/l (in 0,5 mol/l Kaliumphosphatpuffer pH 7,5 bei 25°C) auf und ist in einem pH-Bereich von 5,5 bis 8,0 wirksam.

[0006] Es hat sich gezeigt, daß diese Cholesterinoxidase in großer Menge in aktiver Form erhalten werden kann, wenn für eine heterologe Expression eine DNA verwendet wird, welche für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodiert mit der in SEQ ID NO 1 gezeigten DNA-Sequenz oder der dazu komplementären DNA-Sequenz.

[0007] Vorzugsweise wird eine DNA verwendet, welche die in SEQ ID NO 1 gezeigte Sequenz aufweist. In dem Fachmann geläufiger Weise können jedoch degenerierte Codons durch andere Codons, welche für die gleiche Aminosäure kodieren, ersetzt werden. Zusätzlich soll die verwendete DNA eine der in SEQ ID NO 3, 4 und/oder 5 gezeigten DNA-Sequenzen aufweisen und für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodieren. Unter einem Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität ist ein solches Peptid zu verstehen, welches die Oxidation von Cholesterin (5-Cholesten-3- β -ol) zu 4-Cholesten-3-on und H_2O_2 katalysiert.

[0008] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher eine DNA, welche für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodiert mit der in SEQ ID NO 1 gezeigten DNA-Sequenz oder der dazu komplementären DNA-Sequenz.

[0009] Mit einer solchen DNA kann eine mindestens 10fach höhere Aktivität der rekombinant hergestellten Cholesterinoxidase im Rohextrakt erhalten werden als mit den bislang beschriebenen Verfahren und Cholesterinoxidasen.

[0010] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase durch Transformation einer geeigneten Wirtszelle mit einer erfindungsgemäßen DNA, welche in einem geeigneten Expressionssystem vorliegt, Kultivierung der transformierten Wirtszellen und Isolierung der gebildeten Cholesterinoxidase aus dem Zytoplasma der transformierten Zellen.

[0011] Mit diesem Verfahren ist es überraschenderweise möglich, eine rekombinante Cholesterinoxidase in großer Menge und aktiver Form aus dem Zytoplasma der transformierten Wirtszelle zu erhalten. Dabei kann die verwendete DNA am 5'-Ende eine zusätzliche Nukleotidsequenz enthalten, die ein Translations-Startcodon, jedoch kein Stopcodon aufweist, wobei diese zusätzliche Nukleotidsequenz nicht zu einer Leserasterverschiebung führt und keine für die Sekretion des gebildeten rekombinanten Enzyms funktionell aktive Signalsequenz darstellt. Die Länge dieser Nukleotidsequenz beträgt etwa 3 bis 90 Basenpaare.

[0012] Vorzugsweise weist die zusätzliche Nukleotidsequenz eine der in den Sequenzprotokollen 6, 8, 10, 12, 14 und 16 gezeigten Sequenzen anstelle der nativen Signalsequenz auf.

[0013] Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase, wobei eine erfindungsgemäße DNA verwendet wird, welche am 5'-Ende eine der in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 oder 16 gezeigten Sequenzen aufweist.

[0014] Die Transformation der für die rekombinante Herstellung verwendeten Wirtszellen erfolgt nach bekannten Verfahren (siehe z.B. Sambrook, Fritsch und Maniatis, "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989). Die transformierten Wirtszellen werden dann unter Bedingungen kultiviert, die eine Expression des Cholesterinoxidase-Gens erlauben. Je nach dem verwendeten Expressionsvektor ist hierfür in bekannter Weise gegebenenfalls die Zugabe eines Induktors (z.B. Lactose oder Isopropyl- β -D-thiogalactopyranosid (IPTG)) zum Kulturmedium, eine Temperaturerhöhung oder eine limitierte Glucosezufuhr zweckmäßig. Die Isolierung der rekombinanten Cholesterinoxidase aus dem Zytoplasma der transformierten Zellen erfolgt dann nach bekannten Verfahren.

[0015] Mit diesem Verfahren ist es möglich, die erfindungsgemäße Cholesterinoxidase als rekombinantes Enzym in einer Ausbeute von 8 - 20 U/ml zu erhalten. Die Expression des vollständigen Cholesterinoxidase-Gens, welches die Signalsequenz enthält, ergibt dagegen lediglich eine Ausbeute von unter 0,1 U/ml.

[0016] Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist eine erfindungsgemäße, für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodierende DNA, welche am 5'-Ende eine der in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 und 16 gezeigten Sequenzen aufweist. Besonders bevorzugt sind die in den Sequenzprotokollen 18, 20, 22, 24, 26 und 29 gezeigten Sequenzen. Vorzugsweise liegen diese erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen in einem Expressionsvektor kloniert vor. Mit Hilfe dieser DNA kann die erfindungsgemäße Cholesterinoxidase in beliebigen Mengen in den für die rekombinante Herstellung von Proteinen üblicherweise verwendeten Bakterien gewonnen werden. Vorzugsweise erfolgt die Expression in *E. coli*.

[0017] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher eine rekombinante Cholesterinoxidase, welche von einer erfindungsgemäßen DNA kodiert wird und am N-terminalen Ende eine der in SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 oder 17 gezeigten Aminosäuresequenzen aufweist.

[0018] Diese rekombinante Cholesterinoxidase ist für einen enzymatischen Test zur Bestimmung von Cholesterin ebenso geeignet wie die übrigen aus dem Stand der Technik bekannten Cholesterinoxidasen. Falls erforderlich können in dem Fachmann geläufiger Weise durch in-vitro-Mutagenese zwischen diesen N-terminalen Sequenzen und der Aminosäuresequenz der reifen Cholesterin-oxidase Erkennungssequenzen für spezifische Proteasen wie z.B. der IgA-Protease, der Enterokinase oder des Faktors Xa integriert werden, so daß auch nach der zytoplasmatischen Expression der um diese N-terminalen Sequenzen verlängerten Cholesterinoxidase eine Abspaltung solcher anfusionierter N-terminaler Sequenzen möglich ist.

[0019] Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist eine rekombinante Cholesterinoxidase, welche die in SEQ ID NO 21, 23, 25, 27 oder 29 gezeigte Aminosäuresequenz aufweist, sowie die Verwendung einer solchen rekombinanten Cholesterinoxidase in einem enzymatischen Test zum Nachweis von Cholesterin. Dabei wird vorzugsweise das in der Cholesterinoxidasereaktion gebildete H_2O_2 in einer nachgeschalteten Indikatorreaktion als Maß für das in der Probe vorhandene Cholesterin bestimmt.

[0020] Die in den Beispielen genannten Plasmide pUC-Chol-B2-BB (DSM 8274), pmgl-SphI (DSM 8272) und pfl-20AT1-SD (DSM 8273) wurden am 05.05.1993 bei der Deutschen Sammlung für Zellkulturen und Mikroorganismen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D - 3300 Braunschweig hinterlegt.

[0021] Die Anmeldung wird durch die folgenden Beispiele in Verbindungen mit den Sequenzprotokollen und Figuren näher erläutert.

SEQ ID NO 1 zeigt die Nukleinsäuresequenz der erfindungsgemäßen Cholesterinoxidase.

SEQ ID NO 2 zeigt die Aminosäuresequenz der erfindungsgemäßen Cholesterinoxidase.

SEQ ID NO 3 - 5 zeigen Nukleotidsequenzen aus erfindungsgemäßen, für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodierenden DNA's.

SEQ ID NO 6 - 17 zeigen die N-terminalen Sequenzen der erfindungsgemäßen rekombinanten Cholesterinoxidasene (SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 und 16) bzw. der dazugehörigen N-terminalen Aminosäuresequenzen (SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 und 17).

SEQ ID NO 18 - 29 zeigen die Nukleinsäuresequenzen und dazugehörigen Aminosäuresequenzen von erfindungsgemäßen rekombinanten Cholesterinoxidasen.

[0022] Dabei bedeuten:

	Signalsequenz	vollständige Sequenz	Konstrukt
5	SEQ ID NO 6-7	SEQ ID NO 18-19	plac-Chol-cyt
	SEQ ID NO 8-9	SEQ ID NO 20-21	ppfl-Chol-cyt
	SEQ ID NO 10-11	SEQ ID NO 22-23	ppfl-MSN3H-Chol-cyt
	SEQ ID NO 12-13	SEQ ID NO 24-25	ppfl-MSN4H-Chol-cyt
	SEQ ID NO 14-15	SEQ ID NO 26-27	ppfl-MSN4R2K-Chol-cyt
10	SEQ ID NO 16-17	SEQ ID NO 28-29	ppfl-MVM3H-Chol-cyt
	SEQ ID NO 30 - 33 zeigen vier Oligonukleotide für die Amplifikation eines Fragments des erfindungsgemäßen Cholesterinoxidase-Gens.		
15	SEQ ID NO 34 zeigt die Sequenz eines Adapteroligonukleotids für die in vitro-Mutagenese des Cholesterinoxidase-Gens gemäß Beispiel 5.		

Fig. 1 zeigt das Plasmid pUC-Chol-B2-BB.

Fig. 2 zeigt das Plasmid plac-Chol-cyt.

Fig. 3 zeigt das Plasmid ppfl-Chol-cyt.

Fig. 4 zeigt das Plasmid ppfl-MSN3H-Chol-cyt.

Beispiel 1

Klonierung des Gens für Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*

[0023] *Brevibacterium sterolicum* (BMTU 2407) wird in 500 ml "nutrient broth" (Difco) 20 h bei 30°C angezüchtet. Die Zellen werden durch Zentrifugation geerntet. Die so gewonnene Zellmasse wird in 20 mmol/l Tris/HCl pH 8,0 zu 0,4 g Zell-Naßgewicht/ml resuspendiert. 2,5 ml dieser Suspension werden mit 5 ml 24 % (w/v) Polyethylenglycol 6000, 2,5 ml 20 mmol/l Tris/HCl pH 8,0 und 10 mg Lysozym versetzt und 14 h bei 4°C inkubiert. Dann erfolgt die Lyse der Zellen durch Zugabe von 1 ml 20 % (w/v) SDS und 2 mg Protease K und Inkubation für 1 h bei 37°C. Diese Lösung wird mit dem gleichen Volumen 20 mmol/l Tris/HCl pH 8,0 versetzt und dann pro ml 1 g CsCl sowie 0,8 mg Ethidiumbromid zugegeben. Diese Lösung wird durch Ultrazentrifugation 24 h bei 40.000 Upm in einem TV850 Vertikal-Rotor (DuPont) aufgetrennt. Die DNA-Bande wird dann mit einer Injektionsspritze abgezogen. Die Entfernung des Ethidiumbromids und Ethanol-Fällung der DNA erfolgt wie bei Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (1989) beschrieben.

[0024] 7 µg der so gewonnenen DNA werden partiell mit der Restriktionsendonuklease NlaIII (New England Biolab) geschnitten, auf einem 0,8 % Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und ein Größenbereich von ca. 2 - 12 kb ausgeschnitten. Die DNA-Fragmente werden aus dem Gel isoliert, mit SphI geschnitten und anschließend in einen mit alkalischer Phosphatase aus Kälberdarm behandelten Plasmidvektor pUC19 ligiert. Dieser Ligationsansatz wird in kompetente *E. coli* K12 XL1-blue (Stratagene, Katalog-Nr. 200268) transformiert. Die transformierten Zellen werden auf Agarplatten mit LB-Medium, das 100 µg/ml Ampicillin enthält, ausplattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert. Die hochgewachsenen Kolonien werden auf Nitrocellulosefilter (Schleicher und Schüll) übertragen, durch Behandlung mit Toluol/Chloroform-Dampf lysiert und die Filter mit der Kolonieseite auf Indikatorplatten (s.u.) übertragen. Auf diesen Indikatorplatten erfolgt der Nachweis auf eine Cholesterinoxidase-Aktivität durch 15- bis 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur.

[0025] Klone, die eine Farbreaktion zeigen, werden ausgewählt und isoliert. Zur Kontrolle werden diese *E. coli*-Klone auf einer Agarplatte mit LB-Medium, das 100 µg/ml Ampicillin enthält, ausgestrichen, über Nacht bei 37°C inkubiert, die angewachsenen Kolonien zur Verifizierung nochmals auf zwei verschiedene Nitrocellulosefilter transferiert und wie oben beschrieben mit Toluol/Chloroformdampf aufgeschlossen. Ein Filter wird wieder auf eine der oben beschriebenen Indikatorplatten aufgelegt, der andere Filter auf eine Indikatorplatte ohne Cholesterin. Eine positive Farbreaktion zeigt sich nur auf den kompletten Indikatorplatten mit dem Substrat Cholesterin. Damit wird nachgewiesen, daß die durch den entsprechenden *E. coli*-Klon hervorgerufene Farbreaktion tatsächlich durch aktive Cholesterinoxidase verursacht wird.

Herstellung der Indikatorplatten:

[0026] Für den Plattentest zur Bestimmung von Cholesterinoxidase-Aktivität werden 100 ml 2%ige low-melting-point-Agarose (Sea Plaque BIOzym 50113) aufgeschmolzen und bei einer Temperatur von 42°C eine vorgewärmte Lösung von:

- 48 mg 4-Aminoantipyrin (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 073474)
- 306 mg EST (N-Ethyl-N-sulfoethyl-3-methylanilinkaliumsalz (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 586854))
- 2,5 mg Meerrettichperoxidase Reinheitsgrad II (ca. 260 U/mg (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 005096))
- 60 µl Natriumazidlösung (20%ig)
- 10 ml 1 mol/l Kaliumphosphat pH 7,2
- 150 mg Cholsäurenatriumsalz (Merck, Katalog-Nr. 12448)
- 10 ml Cholesterinsubstratlösung (s. u.)
- H₂O ad 100 ml

zu der aufgeschmolzenen Agarose gegeben, vorsichtig gemischt, jeweils 10 ml in Petrischalen gegossen und zur Aufbewahrung dunkel gehalten.

Cholesterinsubstratlösung:

[0027] 500 mg Cholesterin (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 121312) werden in 12,5 ml 1-Propanol (Merck, Katalog-Nr. 997) gelöst, nach Zugabe von 10 g Thesit (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 006190) gut gemischt und H₂O ad 100 ml zugegeben. Die Substratlösung kann bei Raumtemperatur mehrere Monate aufbewahrt werden.

Beispiel 2**Charakterisierung des Cholesterinoxidase-Gens**

[0028] Das Plasmid eines gemäß Beispiel 1 erhaltenen Klon (pUC-Chol-B2) wird nach Standardmethoden isoliert und einer Restriktionskartierung mit den Restriktionsendonukleasen BamHI, EcoRI, KpnI, XhoI, PstI unterzogen. Es zeigt sich, daß ein DNA-Fragment aus dem Genom von Brevibacterium in der Größe von ca. 5,5 kb in dem Plasmid pUC-Chol-B2 inseriert ist. Durch Subklonierung verschiedener Teilfragmente dieses 5,5 kb-Stückes und anschließender Bestimmung der Cholesterin-oxidase-Aktivität der erhaltenen E. coli-Klone kann das Cholesterinoxidase-Gen auf ein BamHI-Fragment von 2,3 kb-Größe eingeengt werden. Das Plasmid mit diesem Fragment wird pUC-Chol-B2-BB genannt (Fig. 1). Die DNA-Sequenz dieses Fragmentes wird bestimmt und auf einem Leseraster, das für Cholesterinoxidase kodiert, hin untersucht. Die Sequenz dieses Leserasters für die reife Cholesterinoxidase ist in SEQ ID NO 1 wiedergegeben.

Beispiel 3**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterinoxidase-Gens mit heterologer Signalsequenz**

[0029] Ein Vergleich der N-terminalen Aminosäuresequenz von Cholesterinoxidase, die aus Brevibacterium isoliert wurde, mit dem gesamten für Cholesterinoxidase kodierenden Leseraster von pUC-Chol-B2-BB zeigt, daß im reifen Protein die ersten 52 kodierten Aminosäuren der Gensequenz fehlen. Diese 52 Aminosäuren zeigen die Struktur einer typischen Exportsignalsequenz gram-positiver Prokaryonten (von Heijne, Biochim. Biophys. Acta 947 (1988), 307 - 333). Für die Konstruktion von rekombinanten Cholesterinoxidase-Genen, bei denen diese Signalsequenz gegen andere Sequenzen ersetzt ist, wird zunächst ein 387 bp großes DNA-Fragment aus dem Plasmid pUC-Chol-B2-BB unter Verwendung der in SEQ ID NO 30 und 31 gezeigten Oligonukleotide mittels PCR amplifiziert. Dieses Fragment enthält den für den N-terminalen Teil der reifen Oxidase kodierenden Bereich mit einer neuen SphI-Schnittstelle direkt vor dem N-Terminus der Aminosäuresequenz des reifen Enzyms. Dieses PCR-Fragment wird mit SphI und PstI gespalten und zusammen mit einem PstI EcoRI-Fragment aus pUC-Chol-B2-BB, das den restlichen Anteil des Cholesterinoxidase-Gens enthält, in den mit SphI und EcoRI gespaltenen Expressionsvektor pmgISphI ligiert und so der Vektor pmgI-Chol-SB erhalten. In diesem Vektor enthält das Cholesterinoxidase-Gen eine in E. coli funktionelle Signalsequenz aus Salmonella typhimurium (beschrieben in WO 88/093773).

Beispiel 4**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterin-oxidase-Gens ohne Signalpeptid-kodierende Sequenz unter Kontrolle des lacUV5-Promotors**

[0030] Aus dem Plasmid pmgl-Chol-SB wird durch Behandlung mit den Restriktionsendonukleasen SphI und BamBI ein DNA-Fragment von ca. 1,85 kb Größe herausgeschnitten, das den gesamten Anteil der kodierenden Sequenz der reifen Cholesterin-oxidase, aber nicht die für das Signal-Peptid kodierende Sequenz enthält. Dieses Fragment wird in den vorher mit SphI und BamBI geschnittenen Plasmidvektor pUC19 eingesetzt. In dem so erhaltenen Plasmid plac-Chol-cyt liegt das Cholesterin-oxidase-Gen im korrekten Leseraster an die ersten zehn Codons des lacZ'-Gens aus pUC19 anfusioniert vor und liegt unter der Kontrolle des lacUV5-Promotors (Fig. 2).

Beispiel 5**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterin-oxidase-Gens ohne Signalpeptid-kodierende Sequenz unter Kontrolle des sauerstoffregulierten pfl-Promotors**

[0031] Durch PCR-Technik wird aus dem Plasmid plac_Chol_cyt unter Verwendung der in SEQ ID NO 32 und 33 dargestellten Oligonukleotide ein DNA-Fragment von 432 bp Größe erzeugt, das vor dem ATG-Startcodon eine ClaI-Schnittstelle enthält. Dieses PCR-Fragment wird mit ClaI und PstI geschnitten. Durch Behandlung mit den Restriktionsendonukleasen PstI und BamHI wird aus dem Plasmid plac-Chol-cyt weiterhin ein Fragment mit dem restlichen C-terminalen Anteil des Cholesterin-oxidase-Gens herausgeschnitten. Beide Fragmente werden simultan in den mit BamHI und ClaI gespaltenen Expressionsvektor pfl 20AT1-SD einligiert. Das korrekte Ligationsprodukt enthält nun den Leseraster der reifen Cholesterin-oxidase anfusioniert an die ersten zehn Codons des lacZ'-Gens aus pUC19 unter der Kontrolle des sauerstoffregulierten pfl-Promotors (Fig. 3). Dieses Plasmid trägt die Bezeichnung ppfl-Chol-cyt.

Beispiel 6**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterin-oxidase-Gens mit alternativer N-terminaler Fusionssequenz**

[0032] Zur Entfernung der im 3' untranslatierten Bereich des Cholesterin-oxidase-Gens gelegenen SphI-Schnittstelle des Plasmids ppfl-Chol-cyt wird die Plasmid-DNA mit SmaI und EcoRV geschnitten und wieder religiert. 100 ng des so entstandenen Plasmids ppfl-Chol-cyt-Aterm werden dann mit den Restriktionsenzymen ClaI und SphI gespalten. Das entstandene 4,76 kb große DNA-Fragment wird in low-melting-point Agarose elektrophoretisch aufgetrennt, ausgeschnitten und eluiert (Glassmilk®-Kit, Bio 101). 100ng des so gereinigten DNA-Fragments werden mit 50 pmol eines Adapter-Oligonukleotids mit der in SEQ ID NO 34 dargestellten Sequenz (wobei "N" eine äquimolare Mischung aller 4 Basen bedeutet) versetzt und 2 Stunden bei 37°C mit T4-DNA-Ligase behandelt. Anschließend wird der Ansatz mit einer Mischung aus 4 dNTP's (Endkonz. 0,125 mmol/l) versetzt und 40 Minuten bei 37°C mit Klenow-DNA-Polymerase behandelt. Die so erhaltene Plasmid-DNA wird in E. coli XL1-blue (Stratagene) transformiert. Mit Hilfe des in Beispiel 1 beschriebenen Kolonie-Aktivitätstest werden einzelne Kolonien von erhaltenen Klonen bezüglich ihrer Cholesterin-oxidase-Aktivität verglichen. Klone mit hoher Cholesterin-oxidase-Aktivität werden isoliert und die Plasmid-DNA durch Restriktionsanalyse und DNA-Sequenzierung charakterisiert. Für das Plasmid eines Klons mit besonders hoher Cholesterin-oxidase-Aktivität wird die Sequenz SEQ ID NO 23 ermittelt. Das betreffende Plasmid wird ppfl-MSN3H-Chol-cyt-Aterm genannt. Es ist zu erwarten, daß in der dargestellten Art und Weise nach Isolierung und Charakterisierung genügend vieler verschiedener Klone auch noch weitere für eine besonders hohe Expression geeignete Klone gefunden werden können. Zur Wiedervervollständigung des 3'-untranslatierten Anteils wird das Plasmid ppfl-MSN3H-Chol-cyt-Aterm mit ClaI und XhoI geschnitten. Ein DNA-Fragment von ca. 1,1kb mit der Translationsinitiationsregion und dem N-terminalen Anteil des Cholesterin-oxidase-Gens wird isoliert und in das ebenfalls mit ClaI und XhoI geschnittene Plasmid ppfl-Chol-cyt einligiert (Fig. 4). Das erhaltene Plasmid trägt die Bezeichnung ppfl-MSN3H-Chol-cyt.

Beispiel 7**Vergleich der Bildung von Cholesterin-oxidase durch die verschiedenen Expressionsplasmide in E. coli**

[0033] Die Plasmide pUC-Chol-B2, pUC-Chol-B2-BB, pmgl-Chol-SB, plac-Chol-cyt, ppfl-Chol-cyt, ppfl-MSN3H-Chol-cyt werden jeweils in E. coli K12 XL1-blue transformiert. Zum Vergleich der gebildeten Enzymmenge werden die Klone jeweils 15 Stunden bei 30°C in LB-Medium, das 200 µg/ml Ampicillin und folgende weiteren Zusätze

enthält, angezogen:

Klone mit den Plasmiden pUC-Chol-B2, pUC-Chol-B2-BB, plac-Chol-cyt, bei denen das Cholesterinoxidase-Gen jeweils unter der Kontrolle des lacUV5-Promotors steht, bekommen zusätzlich 1 mmol/l IPTG, der Klon mit dem Plasmid pmgl-Chol-SB mit dem Glucose-reprimierten mgl-Promotor erhält keinen weiteren Zusatz, Klone mit den Plasmiden ppfl-Chol-cyt, ppfl-MSN3H-Chol-cyt mit dem sauerstoffregulierten pfl-Promotor erhalten 0,4% Glucose und werden in Stickstoff begasten verschlossenen Serumflaschen angezogen, wobei das Medium mit KOH auf pH 7,0 eingestellt wurde. Nach erfolgter Anzucht wird die erreichte Zelldichte durch photometrische Messung der Trübung bei 420 nm bestimmt. Die Zellen von 1 ml Kulturbrühe werden dann durch Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge bei 10.000 g sedimentiert und wieder in 0,5 ml H₂O bidest resuspendiert. Der Zellaufschluß erfolgt durch 2 x 30 Sekunden Ultraschallbehandlung (Branson Sonifier, Modell 450, Standard-Microtip, Konisch). Die so erhaltenen Zellextrakte werden nach entsprechender Verdünnung in den folgenden Enzymtest eingesetzt: Hierzu werden in Quartz-Küvetten pipettiert: 3 ml Kaliumphosphatpuffer (0,5 mol/l, pH 7,5), der 0,4 % Thesit® (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 006190) enthält,

0,1 ml Cholesterinlösung (0,4 % Cholesterin, 10 % 1-Propanol, 10 % Thesit®),

0,02 ml H₂O₂ (0,49 mol/l in bidest. Wasser),

es wird gemischt, nach Zugabe von 0,02 ml Katalase (aus Rinderleber, 20 mg Protein/ml, spezifische Aktivität ca. 65.000 U/mg, Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 0156744 unmittelbar vor Messung mit eiskaltem Kaliumphosphatpuffer, der 0,4 % Thesit enthält, auf 0,075 - 0,15 U/ml verdünnt) erneut gemischt, die Lösung auf eine Temperatur von 25°C gebracht und anschließend die Reaktion durch Zugabe von 0,05 ml Probelösung gestartet. Nach vorsichtigem Mischen wird die Absorptionsänderung bei 240 nm verfolgt und die Aktivität der Cholesterinoxidase aus dem linearen Bereich der Absorptionskurve ermittelt:

3,19

$$\text{Aktivität} = \frac{\Delta A \text{ min. (U/ml Probelösung)}}{\epsilon \times 240 \times 0,05 \times 1}$$

wobei $\epsilon \times 240 = 15,5 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$ ist.

[0034] Die erhaltenen Werte für Zelldichte und Enzymaktivität sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1

Klon/Plasmid	Zelldichte (E 420)	Units je Zelldichte	Units pro ml
pUC-Chol-B2	7,0	0,007	0,049
pUC-Chol-B2-BB	8,4	0,068	0,571
pmgl-Chol-SB	1,3	0,014	0,018
plac-Chol-cyt	8,6	0,725	6,235
ppfl-Chol-cyt	1,25	1,675	2,094
ppfl-MSN3H-Chol-cyt	3,7	1,463	5,413

[0035] Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß mit solchen Konstrukten, die eine zytoplasmatische Expression der Cholesterinoxidase bewirken, eine deutlich höhere Aktivität der rekombinant hergestellten Cholesterinoxidase erhalten werden kann als mit solchen Konstrukten, die zu einer Sekretion der rekombinant hergestellten Cholesterinoxidase führen.

SEQUENZPROTOKOLL

[0036]

(1) ALGEMEINE INFORMATION:

(i) ANMELDER:

(A) NAME: Boehringer Mannheim GmbH

EP 0 698 102 B1

(B) STRASSE: Sandhofer Str. 116
(C) ORT: Mannheim
(E) LAND: Deutschland
(F) POSTLEITZAHL: D - 6800

5

(ii) ANMELDETITEL: Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 34

10

(iv) COMPUTER-LESBARE FORM:

(A) DATENTRÄGER: Floppy disk
(B) COMPUTER: IBM PC compatible
(C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPA)

15

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

20

(A) LANGE: 1683 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

25

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(ix) MERKMALE:

30

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 1..1683

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

35

40

45

50

55

EP 0 698 102 B1

5	TCG ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn 1 5 10 15	48
10	GAC ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile 20 25 30	96
15	ATG CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val 35 40 45	144
20	GTT CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro 50 55 60	192
25	CGC GGC GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC Arg Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala 65 70 75 80	240
30	AAC GTC GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC Asn Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly 85 90 95	288
35	ATC ACG GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala 100 105 110	336
40	GGC GCC AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu 115 120 125	384
45	GGC TGG GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala 130 135 140	432
50	CTT GCG GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr 145 150 155 160	480
55	ACG CTG CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu 165 170 175	528
60	CTG ACC GCG GTC GTC TGG AAC GGC ACC ACC TAC GCA CTC GAG ACG TAC Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr 180 185 190	576
65	CAG CGC AAC GAT CCT CGG ATC ACC CCA CTG CTC ACC AAC CTC GGG CGC Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg 195 200 205	624
70	TGC TTC CTG ACC TCG GTG ACG ATG CAG GCC GGC CCC AAC TTC CGT CAG Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln 210 215 220	672
75	CGG TGC CAG AGC TAC ACC GAC ATC CCG TGG CGG GAA CTG TTC GCG CCG Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro 225 230 235 240	720

EP 0 698 102 B1

	AAG GGC GCC GAC GGC CGC ACG TTC GAG AAG TTC GTC GCG GAA TCG GGC	768
	Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly	
	245 250 255	
5	GGC GCC GAG GCG ATC TGG TAC CCG TTC ACC GAG AAG CCG TGG ATG AAG	816
	Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys	
	--260 265 270	
10	GTG TGG ACG GTC TCG CCG ACC AAG CCG GAC TCG TCG AAC GAG GTC GGA	864
	Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly	
	275 280 285	
15	AGC CTC GGC TCG GCG GGC TCC CTC GTC GGC AAG CCT CCG CAG GCG CGT	912
	Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg	
	290 295 300	
20	GAG GTC TCC GGC CCG TAC AAC TAC ATC TTC TCC GAC AAC CTG CCG GAG	960
	Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu	
	305 310 315 320	
25	CCC ATC ACC GAC ATG ATC GGC GCC ATC AAC GCC GGA AAC CCC GGA ATC	1008
	Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile	
	325 330 335	
30	GCA CCG CTG TTC GGC CCG GCG ATG TAC GAG ATC ACC AAG CTC GGG CTG	1056
	Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu	
	340 345 350	
35	GCC GCG ACG AAT GCC AAC GAC ATC TGG GGC TGG TCG AAG GAC GTC CAG	1104
	Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln	
	355 360 365	
40	TTC TAC ATC AAG GCC ACG ACG TTG CGA CTC ACC GAG GGC GGC GGC GCC	1152
	Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala	
	370 375 380	
45	GTC GTC ACG AGC CGC GCC AAC ATC GCG ACC GTG ATC AAC GAC TTC ACC	1200
	Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr	
	385 390 395 400	
50	GAG TGG TTC CAC GAG CGC ATC GAG TTC TAC CGC GCG AAG GGC GAG TTC	1248
	Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe	
	405 410 415	
55	CCG CTC AAC GGT CCG GTC GAG ATC CGC TGC TGC GGG CTC GAT CAG GCA	1296
	Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala	
	420 425 430	
60	GCC GAC GTC AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC	1344
	Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr	
	435 440 445	
65	CGT CCG CGT CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC	1392
	Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn	
	450 455 460	
70	GTT CTC GGT GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG	1440
	Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu	
	465 470 475 480	
75	ATG GAG CAG TGG ATG CGG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC	1488
	Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe	
	485 490 495	

EP 0 698 102 B1

	CGG CCC GAG TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC	1536
	Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr	
	500 505 510	
5	GAC AAC GAC ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT	1584
	Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly	
	515 520 525	
10	GTC CCG ACG ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CCG TAC AAC CAG	1632
	Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln	
	530 535 540	
15	ATC GAC CCG CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT	1680
	Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu	
	545 550 555 560	
	CCG	1683
	Pro	

20 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

25 (A) LANGE: 561 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

30 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

35

40

45

50

55

EP 0 698 102 B1

Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn
 1 5 10 15
 5 Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile
 20 25 30
 Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val
 35 40 45
 10 Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro
 50 55 60
 Arg Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala
 65 70 75 80
 15 Asn Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly
 85 90 95
 Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala
 100 105 110
 20 Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu
 115 120 125
 Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala
 130 135 140
 25 Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr
 145 150 155 160
 Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu
 165 170 175
 30 Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr
 180 185 190
 Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg
 195 200 205
 35 Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln
 210 215 220
 Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro
 225 230 235 240
 Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly
 245 250 255
 45 Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys
 260 265 270

50

55

Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly
 275 280 285
 5 Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg
 290 295 300
 Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu
 305 310 315 320
 10 Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile
 325 330 335
 Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu
 340 345 350
 15 Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln
 355 360 365
 Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala
 370 375 380
 20 Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr
 385 390 395 400
 Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe
 405 410 415
 25 Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala
 420 425 430
 Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr
 435 440 445
 Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn
 450 455 460
 35 Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu
 465 470 475 480
 Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe
 485 490 495
 40 Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr
 500 505 510
 Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly
 515 520 525
 45 Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln
 530 535 540
 Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu
 545 550 555 560
 50 Pro

55 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

EP 0 698 102 B1

- (A) LÄNGE: 48 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

5

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

TTCCCGCTCA ACGGTCCGGT CGAGATCCGC TGCTGCGGGC TCGATCAG

48

10

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

15

- (A) LÄNGE: 48 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

20

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

GCGATCTGGC TGAACGTTCT CGGTGTTCCG GGCACCCCCG GCATGTTT

48

25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

30

- (A) LÄNGE: 36 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

35

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

GACGCCACCT TCCGGCCCCG GTGGTCGAAG GGGTGG

36

40

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

45

- (A) LANGE: 46 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

50

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 17..46

55

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

CACACAGGAA ACAGCT ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC
 Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
 1 5 10

46

5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

10

- (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

15

(ii) ART DES KOLEKULS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
 1 5 10

20

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

25

- (A) LÄNGE: 49 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

30

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLUSSEL: CDS
- (B) LAGE: 20..49

35

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

GAATTTAAGG GGAACATCG ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC
 Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
 1 5 10

40

49

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

45

- (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

50

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
 1 5 10

55

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 5 (A) LÄNGE: 43 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

10 (ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 20..43

15 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT CAC CAT GGG CAT GCC 43
Met Ser Asn His His Gly His Ala
1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 25 (A) LÄNGE: 8 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

- 30 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

35 Met Ser Asn His His Gly His Ala
1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 40 (A) LÄNGE: 45 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
45 (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- 50 (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 19..45

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

55 AATTTGGAGG GGAACATT ATG AGT AAT CAT CAC CAT GGG CAT GCC 45
Met Ser Asn His His His Gly His Ala
1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 13:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 5 (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

- 10 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

Met Ser Asn His His His Gly His Ala
 1 5

15

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 14:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 20 (A) LANGE: 58 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

- 25 (ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 20..58

- 30 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT ACG CGT AAA CGC AAG CGC CGT ACG 52
Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr
 1 5 10

35

CAT GCC 58
His Ala

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 15:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 45 (A) LÄNGE: 13 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

- 50 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 15:

Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Thr His Ala
 1 5 10

55

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 16:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

EP 0 698 102 B1

- (A) LANGE: 48 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

5

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 25..48

10

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:

15 **GAATTCACAC AGGAAACAGA ATTC ATG GTT ATG CAC CAT GGG CAT GCC** 48
Met Val Met His His Gly His Ala
1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 17:

20

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 8 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

25

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:

30

Met Val Met His His Gly His Ala
1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 18:

35

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 1729 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

40

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 17..1729

45

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

50

55

EP 0 698 102 B1

	CACACAGGAA ACAGCT ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC TCG	49
	Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser	
	1 5 10	
5	ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC	97
	Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp	
	15 20 25	
10	ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG	145
	Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met	
	30 35 40	
15	CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT	193
	Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val	
	45 50 55	
20	CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC	241
	Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg	
	60 65 70 75	
25		
30		
35		
40		
45		
50		
55		

	GGC	GCG	ATG	CAC	GGC	TGG	ACC	CCG	CTC	ACC	GTG	GAG	AAG	GGG	GCC	AAC	289
	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	
					80					85					90		
5	GTC	GAG	AAG	GTG	ATC	CTC	GCC	GAC	ACG	ATG	ACG	CAT	CTG	AAC	GGC	ATC	337
	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	Asn	Gly	Ile	
				95					100					105			
10	ACG	GTG	AAC	ACG	GGC	GCG	CCC	GTG	GCT	ACC	GTG	ACC	GCC	GGT	GCC	GGC	385
	Thr	Val	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	
			110					115					120				
15	GCC	AGC	ATC	GAG	GCG	ATC	GTG	ACC	GAA	CTG	CAG	AAG	CAC	GAC	CTC	GGC	433
	Ala	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	Asp	Leu	Gly	
		125					130					135					
20	TGG	GCC	AAC	CTG	CCC	GCT	CCG	GGT	GTG	CTG	TCG	ATC	GGT	GGC	GCC	CTT	481
	Trp	Ala	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	Gly	Ala	Leu	
	140					145					150					155	
25	GCG	GTC	AAC	GCG	CAC	GGT	GCG	GCG	CTG	CCG	GCC	GTC	GGC	CAG	ACC	ACG	529
	Ala	Val	Asn	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	Gln	Thr	Thr	
				160						165					170		
30	CTG	CCC	GGT	CAC	ACC	TAC	GGT	TCG	CTG	AGC	AAC	CTG	GTC	ACC	GAG	CTG	577
	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Glu	Leu	
				175					180					185			
35	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	625
	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	
			190					195					200				
40	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	CGC	TGC	673
	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	
		205					210					215					
45	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	721
	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	
	220					225					230					235	
50	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	769
	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	
				240					245					250			
55	GGC	GCC	GAC	GGC	GCG	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	817
	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	
			255					260					265				
60	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	865
	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	
			270				275						280				
65	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	913
	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	
		285				290						295					
70	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTG	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	961
	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	
	300					305					310					315	
75	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	1009
	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	
				320					325						330		

5	ATC ACC GAC ATG ATC GGC GCC ATC AAC GCC GGA AAC CCC GGA ATC GCA Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala 335 340 345	1057
10	CCG CTG TTC GGC CCG GCG ATG TAC GAG ATC ACC AAG CTC GGG CTG GCC Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala 350 355 360	1105
15	GCG ACG AAT GCC AAC GAC ATC TGG GGC TGG TCG AAG GAC GTC CAG TTC Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe 365 370 375	1153
20	TAC ATC AAG GCC ACG ACG TTG CGA CTC ACC GAG GGC GGC GGC GCC GTC Tyr Ile Lys Ala Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val 380 385 390 395	1201
25	GTC ACG AGC CGC GCC AAC ATC GCG ACC GTG ATC AAC GAC TTC ACC GAG Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu 400 405 410	1249
30	TGG TTC CAC GAG CGC ATC GAG TTC TAC CGC GCG AAG GGC GAG TTC CCG Trp Phe His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro 415 420 425	1297
35	CTC AAC GGT CCG GTC GAG ATC CGC TGC TGC GGG CTC GAT CAG GCA GCC Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala 430 435 440	1345
40	GAC GTC AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC CGT Asp Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg 445 450 455	1393
45	CCG CGT CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC GTT Pro Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val 460 465 470 475	1441
50	CTC GGT GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG ATG Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met 480 485 490	1489
55	GAG CAG TGG ATG CCG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC CGG Glu Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg 495 500 505	1537
60	CCC GAG TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC GAC Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp 510 515 520	1585
65	AAC GAC ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT GTC Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val 525 530 535	1633
70	CCG ACG ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CGG TAC AAC CAG ATC Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile 540 545 550 555	1681
75	GAC CCG CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT CCG Asp Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro 560 565 570	1729

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 19:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 571 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

10

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala
 1 5 10 15

15

Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln
 20 25 30

Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp
 35 40 45

20

Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp
 50 55 60

Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala Met His Gly
 65 70 75 80

25

Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu Lys Val Ile
 85 90 95

Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly
 100 105 110

30

Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala
 115 120 125

Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro
 130 135 140

35

Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His
 145 150 155 160

Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr
 165 170 175

40

Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp
 180 185 190

Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg
 195 200 205

45

Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val
 210 215 220

Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr
 225 230 235 240

50

Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg
 245 250 255

Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp
 260 265 270

55

Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro
 275 280 285
 5 Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly
 290 295 300
 Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr
 305 310 315 320
 10 Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile
 325 330 335
 Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro
 340 345 350
 15 Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn
 355 360 365
 Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr
 370 375 380
 20 Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala
 385 390 395 400
 Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg
 405 410 415
 25 Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val
 420 425 430
 Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro
 435 440 445
 30 Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His
 450 455 460
 Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly
 465 470 475 480
 35 Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg
 485 490 495
 Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys
 500 505 510
 Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr
 515 520 525
 45 Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn
 530 535 540
 Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val
 545 550 555 560
 50 Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565 570

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 20:

55

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 1732 Basenpaare

(B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

5 (ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 20..1732

10 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

	GAATTTAAGG GGAACATCG ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC TCG	52
	Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser	
15	1 5 10	
	ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC	100
	Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp	
	15 20 25	
20	ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG	148
	Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met	
	30 35 40	
	CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT	196
25	Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val	
	45 50 55	
	CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC	244
	Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg	
	60 65 70 75	
30	GGC GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGC GCC AAC	292
	Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn	
	80 85 90	
	GTC GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC ATC	340
35	Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile	
	95 100 105	
	ACG GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC GGC	388
	Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly	
	110 115 120	
40	GCC AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC GGC	436
	Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly	
	125 130 135	
45	TGG GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC CTT	484
	Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu	
	140 145 150 155	
	GCG GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC ACG	532
50	Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr	
	160 165 170	
	CTG CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG CTG	580
	Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu	
	175 180 185	

55

EP 0 698 102 B1

	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	628
	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	
			190					195					200				
5	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	CGC	TGC	676
	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	
		205					210					215					
10	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	724
	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	
		220				225					230					235	
	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	772
	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	
					240					245					250		
15	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	820
	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	
				255					260					265			
20	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	868
	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	
				270				275					280				
	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	916
	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	
		285					290					295					
25	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	964
	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	
		300				305					310					315	
30	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	1012
	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	
					320					325					330		
	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	GGA	ATC	GCA	1060
	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	Ala	
				335				340					345				
35	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	GGG	CTG	GCC	1108
	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Gly	Leu	Ala	
			350				355					360					
40	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	GTC	CAG	TTC	1156
	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	Val	Gln	Phe	
			365				370					375					
	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	GGC	GCC	GTG	1204
	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	Val	
		380				385					390					395	
	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	TTC	ACC	GAG	1252
	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	Glu	
					400					405					410		
50	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	GAG	TTC	CCG	1300
	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	Glu	Phe	Pro	
				415				420						425			
55	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	CAG	GCA	GCC	1348
	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	
			430					435					440				

5	GAC GTC AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC CGT Asp Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg 445 450 455	1396
10	CCG CGT CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC GTT Pro Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val 460 465 470 475	1444
15	CTC GGT GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG ATG Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met 480 485 490	1492
20	GAG CAG TGG ATG CCG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC CGG Glu Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg 495 500 505	1540
25	CCC GAG TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC GAC Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp 510 515 520	1588
30	AAC GAC ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT GTC Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val 525 530 535	1636
35	CCG ACG ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CGG TAC AAC CAG ATC Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile 540 545 550 555	1684
40	GAC CCG CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT CCG Asp Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro 560 565 570	1732

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 21:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 571 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

EP 0 698 102 B1

	Met	Thr	Met	Ile	Thr	Pro	Ser	Leu	His	Ala	Ser	Thr	Gly	Pro	Val	Ala
	1				5					10					15	
5	Pro	Leu	Pro	Thr	Pro	Pro	Asn	Phe	Pro	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Phe	Gln
				20					25					30		
	Gln	Ala	Tyr	Gln	Asn	Trp	Ser	Lys	Glu	Ile	Met	Leu	Asp	Ala	Thr	Trp
			35					40					45			
10	Val	Cys	Ser	Pro	Lys	Thr	Pro	Gln	Asp	Val	Val	Arg	Leu	Ala	Asn	Trp
		50					55					60				
	Ala	His	Glu	His	Asp	Tyr	Lys	Ile	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Met	His	Gly
	65					70					75					80
15	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	Lys	Val	Ile
					85					90					95	

20

25

30

35

40

45

50

55

Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly
 100 105 110
 5 Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala
 115 120 125
 Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro
 130 135 140
 10 Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His
 145 150 155 160
 Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr
 165 170 175
 15 Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp
 180 185 190
 Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg
 195 200 205
 20 Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val
 210 215 220
 Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr
 225 230 235 240
 25 Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg
 245 250 255
 Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp
 260 265 270
 30 Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro
 275 280 285
 Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly
 290 295 300
 35 Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr
 305 310 315 320
 Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile
 325 330 335
 40 Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro
 340 345 350
 Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn
 355 360 365
 45 Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr
 370 375 380
 Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala
 385 390 395 400
 Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg
 405 410 415
 50 Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val
 420 425 430
 55

Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro
 435 440 445
 5 Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His
 450 455 460
 Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly
 465 470 475 480
 10 Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg
 485 490 495
 Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys
 500 505 510
 15 Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr
 515 520 525
 Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn
 530 535 540
 20 Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val
 545 550 555 560
 Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565 570
 25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1726 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 20..1726

(xi) SEQUENZ BESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

	GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT CAC CAT GGG CAT GCC TCG ACC GGG	52
	Met Ser Asn His His Gly His Ala Ser Thr Gly	
	1 5 10	
5	CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC ATC GCG	100
	Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala	
	15 20 25	
10	CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG CTG GAC	148
	Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp	
	30 35 40	
15	GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT CGC CTT	196
	Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu	
	45 50 55	
20	GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC GGC GCG	244
	Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala	
	60 65 70 75	
25		
30		
35		
40		
45		
50		
55		

EP 0 698 102 B1

	ATG	CAC	GGC	TGG	ACC	CCG	CTC	ACC	GTG	GAG	AAG	GGG	GCC	AAC	GTC	GAG	292
	Met	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	
					80					85					90		
5	AAG	GTG	ATC	CTC	GCC	GAC	ACG	ATG	ACG	CAT	CTG	AAC	GGC	ATC	ACG	GTG	340
	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	
				95					100					105			
10	AAC	ACG	GGC	GGC	CCC	GTG	GCT	ACC	GTC	ACC	GCC	GGT	GCC	GGC	GCC	AGC	388
	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ser	
			110						115					120			
15	ATC	GAG	GCG	ATC	GTC	ACC	GAA	CTG	CAG	AAG	CAC	GAC	CTC	GGC	TGG	GCC	436
	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	
		125					130					135					
20	AAC	CTG	CCC	GCT	CCG	GGT	GTG	CTG	TCG	ATC	GGT	GGC	GCC	CTT	GCG	GTC	484
	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	
		140				145					150					155	
25	AAC	GCG	CAC	GGT	GCG	GCG	CTG	CCG	GCC	GTC	GGC	CAG	ACC	ACG	CTG	CCC	532
	Asn	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	Gln	Thr	Thr	Leu	Pro	
					160					165					170		
30	GGT	CAC	ACC	TAC	GGT	TCG	CTG	AGC	AAC	CTG	GTC	ACC	GAG	CTG	ACC	GCG	580
	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Glu	Leu	Thr	Ala	
				175					180					185			
35	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	CGC	AAC	628
	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	Arg	Asn	
			190					195					200				
40	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	GCG	TGC	TTC	CTG	676
	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	Phe	Leu	
		205					210					215					
45	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	TGC	CAG	724
	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	Cys	Gln	
		220				225				230					235		
50	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	GGC	GCC	772
	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	Gly	Ala	
				240					245						250		
55	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	GCC	GAG	820
	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	Ala	Glu	
				255					260					265			
60	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	TGG	ACG	868
	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	Trp	Thr	
			270					275					280				
65	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	CTC	GGC	916
	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	
		285					290					295					
70	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	GTC	TCC	964
	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	Val	Ser	
		300				305					310					315	
75	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	ATC	ACC	1012
	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	Ile	Thr	
				320					325						330		

5	GAC ATG ATC GGC GCC ATC AAC GCC GGA AAC CCC GGA ATC GCA CCG CTG Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu 335 340 345	1060
10	TTC GGC CCG GCG ATG TAC GAG ATC ACC AAG CTC GGG CTG GCC GCG ACG Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr 350 355 360	1108
15	AAT GCC AAC GAC ATC TGG GGC TGG TCG AAG GAC GTC CAG TTC TAC ATC Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile 365 370 375	1156
20	AAG GCC ACG ACG TTG CGA CTC ACC GAG GGC GGC GGC GCC GTC GTC ACG Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr 380 385 390 395	1204
25	AGC CGC GCC AAC ATC GCG ACC GTG ATC AAC GAC TTC ACC GAG TGG TTC Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe 400 405 410	1252
30	CAC GAG CGC ATC GAG TTC TAC CGC GCG AAG GGC GAG TTC CCG CTC AAC His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn 415 420 425	1300
35	GGT CCG GTC GAG ATC CGC TGC TGC GGG CTC GAT CAG GCA GCC GAC GTC Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val 430 435 440	1348
40	AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC CGT CCG CGT Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg 445 450 455	1396
45	CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC GTT CTC GGT Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly 460 465 470 475	1444
50	GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG ATG GAG CAG Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln 480 485 490	1492
55	TGG ATG CGG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC CGG CCC GAG Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu 495 500 505	1540
60	TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC GAC AAC GAC Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp 510 515 520	1588
65	ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT GTC CCG ACG Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr 525 530 535	1636
70	ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CGG TAC AAC CAG ATC GAC CCG Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro 540 545 550 555	1684
75	CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT CCG His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro 560 565	1726

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 23:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

EP 0 698 102 B1

(A) LANGE: 569 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

5 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:

10	Met	Ser	Asn	His	His	Gly	His	Ala	Ser	Thr	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	1	5	10	15
	Pro	Thr	Pro	Pro	Asn	Phe	Pro	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Phe	Gln	Gln	Ala	20	25	30	
15	Tyr	Gln	Asn	Trp	Ser	Lys	Glu	Ile	Met	Leu	Asp	Ala	Thr	Trp	Val	Cys	35	40	45	
	Ser	Pro	Lys	Thr	Pro	Gln	Asp	Val	Val	Arg	Leu	Ala	Asn	Trp	Ala	His	50	55	60	
20	Glu	His	Asp	Tyr	Lys	Ile	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp	Thr	65	70	75	80
	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	85	90	95	
25	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	100	105	110	
	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	115	120	125	
30	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	130	135	140	
	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	Asn	Ala	His	Gly	Ala	145	150	155	160
35	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	Gln	Thr	Thr	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	165	170	175	
	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Glu	Leu	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	180	185	190	
40	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	195	200	205	
	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	210	215	220	
45	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	225	230	235	240
	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	245	250	255	
50	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	260	265	270	

55

Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys
 275 280 285
 5 Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu
 290 295 300
 Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr
 305 310 315 320
 10 Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala
 325 330 335
 Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met
 340 345 350
 15 Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile
 355 360 365
 Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu
 370 375 380
 20 Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile
 385 390 395 400
 Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu
 405 410 415
 25 Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile
 420 425 430
 Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val
 435 440 445
 Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp
 450 455 460
 35 Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro
 465 470 475 480
 Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His
 485 490 495
 40 Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp
 500 505 510
 Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys
 515 520 525
 45 Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp
 530 535 540
 Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr
 545 550 555 560
 50 Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565

55 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 24:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

EP 0 698 102 B1

(A) LÄNGE: 1728 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 19..1728

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:

15	AATTTGGAGG GGAACATT ATG AGT AAT CAT CAC CAT GGG CAT GCC TCG ACC	51
	Met Ser Asn His His His Gly His Ala Ser Thr	
	1 5 10	
20	GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC ATC	99
	Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile	
	15 20 25	
25	GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG CTG	147
	Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu	
	30 35 40	
30	GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT CGC	195
	Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg	
	45 50 55	
35	CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC GGC	243
	Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly	
	60 65 70 75	
40	GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC AAC GTC	291
	Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val	
	80 85 90	
45	GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC ATC ACG	339
	Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr	
	95 100 105	
50	GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC GGC GCC	387
	Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala	
	110 115 120	
55	AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC GGC TGG	435
	Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp	
	125 130 135	
60	GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC CTT GCG	483
	Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala	
	140 145 150 155	
65	GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC ACG CTG	531
	Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu	
	160 165 170	
70	CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG CTG ACC	579
	Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr	
	175 180 185	

5	GCG GTC GTC TGG AAC GGC ACC ACC TAC GCA CTC GAG ACG TAC CAG CGC Ala Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg 190 195 200	627
	AAC GAT CCT CGG ATC ACC CCA CTG CTC ACC AAC CTC GGG CGC TGC TTC Asn Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe 205 210 215	675
10	CTG ACC TCG GTG ACG ATG CAG GCC GGC CCC AAC TTC CGT CAG CGG TGC Leu Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys 220 225 230 235	723
15	CAG AGC TAC ACC GAC ATC CCG TGG CGG GAA CTG TTC GCG CCG AAG GGC Gln Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly 240 245 250	771
	GCC GAC GGC CGC ACG TTC GAG AAG TTC GTC GCG GAA TCG GGC GGC GCC Ala Asp Gly Arg Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala 255 260 265	819
20	GAG GCG ATC TGG TAC CCG TTC ACC GAG AAG CCG TGG ATG AAG GTG TGG Glu Ala Ile Trp Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp 270 275 280	867
25	ACG GTC TCG CCG ACC AAG CCG GAC TCG TCG AAC GAG GTC GGA AGC CTC Thr Val Ser Pro Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu 285 290 295	915
	GGC TCG GCG GGC TCC CTC GTC GGC AAG CCT CCG CAG GCG CGT GAG GTC Gly Ser Ala Gly Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val 300 305 310 315	963
30	TCC GGC CCG TAC AAC TAC ATC TTC TCC GAC AAC CTG CCG GAG CCC ATC Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile 320 325 330	1011
35	ACC GAC ATG ATC GGC GCC ATC AAC GCC GGA AAC CCC GGA ATC GCA CCG Thr Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro 335 340 345	1059
	CTG TTC GGC CCG GCG ATG TAC GAG ATC ACC AAG CTC GGG CTG GCC GCG Leu Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala 350 355 360	1107
40	ACG AAT GCC AAC GAC ATC TGG GGC TGG TCG AAG GAC GTC CAG TTC TAC Thr Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr 365 370 375	1155
45	ATC AAG GCC ACG ACG TTG CGA CTC ACC GAG GGC GGC GGC GCC GTC GTC Ile Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val 380 385 390 395	1203
	ACG AGC CGC GCC AAC ATC GCG ACC GTG ATC AAC GAC TTC ACC GAG TGG Thr Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp 400 405 410	1251
50	TTC CAC GAG CGC ATC GAG TTC TAC CGC GCG AAG GGC GAG TTC CCG CTC Phe His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu 415 420 425	1299
55	AAC GGT CCG GTC GAG ATC CGC TGC TGC GGG CTC GAT CAG GCA GCC GAC Asn Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp 430 435 440	1347

5	GTC AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC CGT CCG Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro 445 450 455	1395
10	CGT CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC GTT CTC Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu 460 465 470 475	1443
15	GGT GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG ATG GAG Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu 480 485 490	1491
20	CAG TGG ATG CCG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC CGG CCC Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro 495 500 505	1539
25	GAG TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC GAC AAC Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn 510 515 520	1587
30	GAC ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT GTC CCG Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro 525 530 535	1635
35	ACG ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CGG TAC AAC CAG ATC GAC Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp 540 545 550 555	1683
40	CCG CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT CCG Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro 560 565 570	1728

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 25:

35 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LANGE: 570 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

40

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

45

50

55

EP 0 698 102 B1

	Met	Ser	Asn	His	His	His	Gly	His	Ala	Ser	Thr	Gly	Pro	Val	Ala	Pro
	1				5					10					15	
5	Leu	Pro	Thr	Pro	Pro	Asn	Phe	Pro	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Phe	Gln	Gln
				20					25					30		
	Ala	Tyr	Gln	Asn	Trp	Ser	Lys	Glu	Ile	Met	Leu	Asp	Ala	Thr	Trp	Val
			35					40					45			
10	Cys	Ser	Pro	Lys	Thr	Pro	Gln	Asp	Val	Val	Arg	Leu	Ala	Asn	Trp	Ala
		50					55					60				
	His	Glu	His	Asp	Tyr	Lys	Ile	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp
	65					70					75				80	
15	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu
					85					90					95	
20																
25																
30																
35																
40																
45																
50																
55																

Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly
100 105 110

5 Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile
115 120 125

Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala
130 135 140

10 Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His Gly
145 150 155 160

Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr
165 170 175

15 Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp Asn
180 185 190

Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile
195 200 205

20 Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr
210 215 220

Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp
225 230 235 240

25 Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr
245 250 255

Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr
260 265 270

30 Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro Thr
275 280 285

Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser
290 295 300

35 Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn
305 310 315 320

Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly
325 330 335

40 Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala
340 345 350

Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp
355 360 365

45 Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr
370 375 380

50 Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala Asn
385 390 395 400

Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg Ile
405 410 415

55 Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu
420 425 430

	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	Asp	Val	Lys	Val	Pro	Ser
			435					440					445			
5	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	Ala	Thr	Arg	Pro	Arg	Pro	Asp	His	Pro
		450					455					460				
	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	Leu	Asn	Val	Leu	Gly	Val	Pro	Gly	Thr
10		465				470					475					480
	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	Arg	Glu	Met	Glu	Gln	Trp	Met	Arg	Ser
					485					490					495	
	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	Thr	Phe	Arg	Pro	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly
15				500					505					510		
	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	Tyr	Thr	Asp	Asn	Asp	Ile	Val	Thr	Asn
			515					520					525			
	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	Glu	Gly	Val	Pro	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp
20		530					535					540				
	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	Asn	Gln	Ile	Asp	Pro	His	Arg	Val	Phe
		545				550					555					560
	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	Leu	Leu	Pro						
25					565					570						

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 26:

30 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1741 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 20..1741

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

	GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT ACG CGT AAA CGC AAG CGC CGT ACG	52
	Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr	
	1 5 10	
5	CAT GCC TCG ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC	100
	His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe	
	15 20 25	
10	CCG AAC GAC ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG	148
	Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys	
	30 35 40	
15	GAG ATC ATG CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG	196
	Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln	
	45 50 55	
20	GAT GTC GTT CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC	244
	Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile	
	60 65 70 75	
25		
30		
35		
40		
45		
50		
55		

EP 0 698 102 B1

	CGC	CCG	CGC	GGC	GCG	ATG	CAC	GGC	TGG	ACC	CCG	CTC	ACC	GTG	GAG	AAG	292
	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	
				80					85					90			
5	GGG	GCC	AAC	GTC	GAG	AAG	GTG	ATC	CTC	GCC	GAC	ACG	ATG	ACG	CAT	CTG	340
	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	
				95				100					105				
10	AAC	GGC	ATC	ACG	GTG	AAC	ACG	GGC	GGC	CCC	GTG	GCT	ACC	GTC	ACC	GCC	388
	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	
				110				115					120				
	GGT	GCC	GGC	GCC	AGC	ATC	GAG	GCG	ATC	GTC	ACC	GAA	CTG	CAG	AAG	CAC	436
	Gly	Ala	Gly	Ala	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	
				125				130					135				
15	GAC	CTC	GGC	TGG	GCC	AAC	CTG	CCC	GCT	CCG	GGT	GTG	CTG	TCG	ATC	GGT	484
	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	
				140				145				150				155	
20	GGC	GCC	CTT	GCG	GTC	AAC	GCG	CAC	GGT	GCG	GCG	CTG	CCG	GCC	GTC	GGC	532
	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	Asn	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	
					160							165				170	
	CAG	ACC	ACG	CTG	CCC	GGT	CAC	ACC	TAC	GGT	TCG	CTG	AGC	AAC	CTG	GTC	580
	Gln	Thr	Thr	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	
				175					180					185			
25	ACC	GAG	CTG	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	628
	Thr	Glu	Leu	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	
				190				195					200				
30	ACG	TAC	CAG	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	676
	Thr	Tyr	Gln	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	
				205				210				215					
	GGG	CGC	TGC	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	724
	Gly	Arg	Cys	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	
					220			225				230				235	
35	CGT	CAG	CGG	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	772
	Arg	Gln	Arg	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	
					240					245					250		
40	GCG	CCG	AAG	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	820
	Ala	Pro	Lys	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	
				255					260					265			
	TCG	GGC	GGC	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	868
	Ser	Gly	Gly	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	
				270				275					280				
	ATG	AAG	GTG	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	916
	Met	Lys	Val	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	
				285				290				295					
50	GTC	GGA	AGC	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	964
	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	
				300				305				310				315	
55	GCG	CGT	GAG	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	1012
	Ala	Arg	Glu	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	
					320					325					330		

EP 0 698 102 B1

	CCG	GAG	CCC	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	1060
	Pro	Glu	Pro	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	
				335					340					345			
5	GGA	ATC	GCA	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	1108
	Gly	Ile	Ala	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	
			350					355					360				
10	GGG	CTG	GCC	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	1156
	Gly	Leu	Ala	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	
		365					370					375					
15	GTC	CAG	TTC	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	1204
	Val	Gln	Phe	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	
	380					385				390						395	
20	GGC	GCC	GTC	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	1252
	Gly	Ala	Val	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	
					400					405					410		
25	TTC	ACC	GAG	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	1300
	Phe	Thr	Glu	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	
				415					420					425			
30	GAG	TTC	CCG	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	1348
	Glu	Phe	Pro	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	
			430				435						440				
35	CAG	GCA	GCC	GAC	GTC	AAG	GTG	CCG	TCG	GTG	GGC	CCG	CCG	ACC	ATC	TCG	1396
	Gln	Ala	Ala	Asp	Val	Lys	Val	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	
		445					450					455					
40	GCG	ACC	CGT	CCG	CGT	CCG	GAT	CAT	CCG	GAC	TGG	GAC	GTC	GCG	ATC	TGG	1444
	Ala	Thr	Arg	Pro	Arg	Pro	Asp	His	Pro	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	
	460					465					470					475	
45	CTG	AAC	GTT	CTC	GGT	GTT	CCG	GGC	ACC	CCC	GGC	ATG	TTC	GAG	TTC	TAC	1492
	Leu	Asn	Val	Leu	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	
				480					485						490		
50	CGC	GAG	ATG	GAG	CAG	TGG	ATG	CGG	AGC	CAC	TAC	AAC	AAC	GAC	GAC	GCC	1540
	Arg	Glu	Met	Glu	Gln	Trp	Met	Arg	Ser	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	
				495				500						505			
55	ACC	TTC	CGG	CCC	GAG	TGG	TCG	AAG	GGG	TGG	GCG	TTC	GGT	CCC	GAC	CCG	1588
	Thr	Phe	Arg	Pro	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	
			510					515					520				
60	TAC	ACC	GAC	AAC	GAC	ATC	GTC	ACG	AAC	AAG	ATG	CGC	GCC	ACC	TAC	ATC	1636
	Tyr	Thr	Asp	Asn	Asp	Ile	Val	Thr	Asn	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	
			525				530					535					
65	GAA	GGT	GTC	CCG	ACG	ACC	GAG	AAC	TGG	GAC	ACC	GCG	CGC	GCT	CGG	TAC	1684
	Glu	Gly	Val	Pro	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	
	540					545					550					555	
70	AAC	CAG	ATC	GAC	CCG	CAT	CGC	GTG	TTC	ACC	AAC	GGA	TTC	ATG	GAC	AAG	1732
	Asn	Gln	Ile	Asp	Pro	His	Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	
				560						565					570		
75	CTG	CTT	CCG														1741
	Leu	Leu	Pro														

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

5 (A) LANGE: 574 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

10 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein
 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr His Ala Ser Thr Gly
 1 5 10 15
 5 Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala
 20 25 30
 Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp
 35 40 45
 10 Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu
 50 55 60
 Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala
 65 70 75 80
 15 Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu
 85 90 95
 Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val
 100 105 110
 20 Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser
 115 120 125
 Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala
 130 135 140
 25 Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val
 145 150 155 160
 Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro
 165 170 175
 30 Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala
 180 185 190
 Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn
 195 200 205
 35 Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu
 210 215 220
 Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln
 225 230 235 240
 Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala
 245 250 255
 40 Asp Gly Arg Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu
 260 265 270
 45
 50
 55

Ala Ile Trp Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr
275 280 285

5 Val Ser Pro Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly
290 295 300

Ser Ala Gly Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser
305 310 315 320

10 Gly Pro Tyr Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr
325 330 335

Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu
340 345 350

15 Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr
355 360 365

Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile
370 375 380

20 Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr
385 390 395 400

Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe
405 410 415

25 His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn
420 425 430

Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val
435 440 445

30 Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg
450 455 460

35 Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly
465 470 475 480

Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln
485 490 495

40 Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu
500 505 510

Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp
515 520 525

45 Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr
530 535 540

Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro
545 550 555 560

50 His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
565 570

55

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

EP 0 698 102 B1

(A) LÄNGE: 1731 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 25..1731

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

15	GAATTCACAC AGGAAACAGA ATTC ATG GTT ATG CAC CAT GGG CAT GCC TCG	51
	Met Val Met His His Gly His Ala Ser	
	1 5	
20	ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC	99
	Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp	
	10 15 20 25	
25	ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG	147
	Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met	
	30 35 40	
30	CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT	195
	Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val	
	45 50 55	
35	CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC	243
	Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg	
	60 65 70	
40	GGC GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC AAC	291
	Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn	
	75 80 85	
45	GTC GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC ATC	339
	Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile	
	90 95 100 105	
50	ACG GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC GGC	387
	Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly	
	110 115 120	
55	GCC AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC GGC	435
	Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly	
	125 130 135	
60	TGG GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC CTT	483
	Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu	
	140 145 150	
65	GCG GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC ACG	531
	Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr	
	155 160 165	
70	CTG CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG CTG	579
	Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu	
	170 175 180 185	

	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	627
	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	
					190					195					200		
5	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	CGC	TGC	675
	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	
				205					210					215			
10	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	723
	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	
			220					225					230				
15	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	771
	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	
		235					240					245					
20	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	819
	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	
		250				255					260					265	
25	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	867
	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	
					270					275					280		
30	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	915
	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	
				285					290					295			
35	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	963
	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	
			300					305					310				
40	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	1011
	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	
		315					320					325					
45	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	GGA	ATC	GCA	1059
	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	Ala	
		330				335					340					345	
50	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	GGG	CTG	GCC	1107
	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Gly	Leu	Ala	
				350						355					360		
55	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	GTC	CAG	TTC	1155
	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	Val	Gln	Phe	
				365				370						375			
60	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	GGC	GCC	GTC	1203
	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	Val	
			380				385						390				
65	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	TTC	ACC	GAG	1251
	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	Glu	
		395					400					405					
70	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	GAG	TTC	CCG	1299
	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	Glu	Phe	Pro	
		410				415					420					425	
75	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	CAG	GCA	GCC	1347
	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	
					430					435					440		

	GAC	GTC	AAG	GTG	CCG	TCG	GTG	GGC	CCG	CCG	ACC	ATC	TCG	CCG	ACC	CGT	1395
	Asp	Val	Lys	Val	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	Ala	Thr	Arg	
				445					450						455		
5	CCG	CGT	CCG	GAT	CAT	CCG	GAC	TGG	GAC	GTC	CCG	ATC	TGG	CTG	AAC	GTT	1443
	Pro	Arg	Pro	Asp	His	Pro	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	Leu	Asn	Val	
			460					465					470				
10	CTC	GGT	GTT	CCG	GGC	ACC	CCC	GGC	ATG	TTC	GAG	TTC	TAC	CGC	GAG	ATG	1491
	Leu	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	Arg	Glu	Met	
		475					480					485					
	GAG	CAG	TGG	ATG	CGG	AGC	CAC	TAC	AAC	AAC	GAC	GAC	GCC	ACC	TTC	CGG	1539
	Glu	Gln	Trp	Met	Arg	Ser	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	Thr	Phe	Arg	
15	490					495					500					505	
	CCC	GAG	TGG	TCG	AAG	GGG	TGG	GCG	TTC	GGT	CCC	GAC	CCG	TAC	ACC	GAC	1587
	Pro	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	Tyr	Thr	Asp	
					510					515					520		
20	AAC	GAC	ATC	GTC	ACG	AAC	AAG	ATG	CGC	GCC	ACC	TAC	ATC	GAA	GGT	GTC	1635
	Asn	Asp	Ile	Val	Thr	Asn	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	Glu	Gly	Val	
				525					530					535			
	CCG	ACG	ACC	GAG	AAC	TGG	GAC	ACC	GCG	CGC	GCT	CGG	TAC	AAC	CAG	ATC	1683
	Pro	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	Asn	Gln	Ile	
25				540				545					550				
	GAC	CCG	CAT	CGC	GTG	TTC	ACC	AAC	GGA	TTC	ATG	GAC	AAG	CTG	CTT	CCG	1731
	Asp	Pro	His	Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	Leu	Leu	Pro	
		555					560					565					

30

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

35

(A) LANGE: 569 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

40

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

45

50

55

Met Val Met His His Gly His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu
 1 5 10 15
 5 Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala
 20 25 30
 Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys
 35 40 45
 10 Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His
 50 55 60
 Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala Met His Gly Trp Thr
 65 70 75 80
 15 Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu Lys Val Ile Leu Ala
 85 90 95

20

25

30

35

40

45

50

55

Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro
 100 105 110
 5 Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val
 115 120 125
 Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro
 130 135 140
 10 Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala
 145 150 155 160
 Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly
 165 170 175
 15 Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly
 180 185 190
 Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr
 195 200 205
 20 Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met
 210 215 220
 Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile
 225 230 235 240
 25 Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr Phe
 245 250 255
 Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr Pro
 260 265 270
 30 Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys
 275 280 285
 Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu
 290 295 300
 35 Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr
 305 310 315 320
 Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala
 325 330 335
 40 Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met
 340 345 350
 Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile
 355 360 365
 45 Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu
 370 375 380
 Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile
 385 390 395 400
 50 Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu
 405 410 415
 Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile
 420 425 430
 55

5 Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val
 435 440 445
 Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp
 450 455 460
 10 Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro
 465 470 475 480
 Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His
 485 490 495
 15 Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp
 500 505 510
 Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys
 515 520 525
 20 Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp
 530 535 540
 Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr
 545 550 555 560
 25 Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 30:

30 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 36 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 35 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

40 TCGCATGCCT CGACGGGCCC GGTGGCGCCG CTTCGG

36

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 31:

45 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 25 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 50 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

55 CGTGCTTCTG CAGTTCGGTG ACGAT

25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 32:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 39 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure-
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

TCCCATGGCA CACAGGAAAC ATCGATGACC ATGATTACG

39

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 33:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 25 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

CGTGCTTCTG CAGTTCGGTG ACGAT

25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 34:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 18 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

CGATGCACCA TGGGCATG

18

Patentansprüche

1. Aktive Cholesterinoxidase, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie die in SEQ ID NO 2 gezeigte Aminosäuresequenz aufweist.
2. DNA, welche für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodiert mit der in SEQ ID NO 1 gezeigten DNA-Sequenz oder der dazu komplementären DNA-Sequenz.
3. Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase durch Transformation einer geeigneten Wirtszelle mit einer DNA gemäß Anspruch 2, welche in einem geeigneten Expressionssystem kloniert vorliegt, Kultivierung der transformierten Wirtszellen und Isolierung der exprimierten Cholesterinoxidase aus dem Zytoplasma der transformierten Zellen.
4. Verfahren gemäß Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet, daß** die verwendeten DNA am 5'-Ende eine der in SEQ

ID NO 6, 8, 10, 12, 14 oder 16 gezeigten Sequenzen aufweist.

5. DNA gemäß Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie am 5'-Ende eine der in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 oder 16 gezeigten Sequenzen aufweist.
6. DNA gemäß Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie eine der in SEQ ID NO 18, 20, 22, 24, 26 oder 28 gezeigten Sequenzen aufweist.
7. Rekombinante Cholesterinoxidase, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie von einer DNA gemäß Anspruch 2 kodiert wird und am N-terminalen Ende eine der in SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 oder 17 gezeigten Sequenzen aufweist.
8. Rekombinante Cholesterinoxidase gemäß Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie eine der in SEQ ID NO 21, 23, 25, 27 und 29 gezeigten Sequenzen aufweist.
9. Verwendung einer rekombinanten Cholesterinoxidase gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8 in einem enzymatischen Test zur Bestimmung von Cholesterin.

Claims

1. Active cholesterol oxidase, **characterized in that** it has the amino acid sequence shown in SEQ ID NO 2.
2. DNA which codes for a peptide with cholesterol oxidase activity having the DNA sequence shown in SEQ ID NO 1 or the DNA sequence which is complementary thereto.
3. Process for the production of a recombinant cholesterol oxidase by transformation of a suitable host cell with a DNA as claimed in claim 2 which is present cloned in a suitable expression system, culturing the transformed host cells and isolating the expressed cholesterol oxidase from the cytoplasm of the transformed cells.
4. Process as claimed in claim 3, **characterized in that** the DNA used has one of the sequences shown in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 or 16 at the 5' end.
5. DNA as claimed in claim 2, **characterized in that** it has one of the sequences shown in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 or 16 at the 5' end.
6. DNA as claimed in claim 5, **characterized in that** it has one of the sequences shown in SEQ ID NO 18, 20, 22, 24, 26 or 28.
7. Recombinant cholesterol oxidase, **characterized in that** it is coded by a DNA as claimed in claim 2 and has one of the sequences shown in SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 or 17 at the N-terminal end.
8. Recombinant cholesterol oxidase as claimed in claim 7, **characterized in that** it has one of the sequences shown in SEQ ID NO 21, 23, 25, 27 or 29.
9. Use of a recombinant cholesterol oxidase as claimed in one of the claims 7 or 8 in an enzymatic test for the determination of cholesterol.

Revendications

1. Cholestérol oxydase active, **caractérisée en ce qu'elle** présente la séquence d'acides aminés représentée dans SEQ ID NO: 2.
2. ADN qui code pour un peptide possédant une activité de cholestérol oxydase comprenant la séquence d'ADN représentée dans SEQ ID NO: 1 ou la séquence d'ADN complémentaire à celle-ci.
3. Procédé pour la préparation d'une cholestérol oxydase recombinante par transformation d'une cellule hôte appropriée avec un ADN selon la revendication 2, qui est présent à l'état cloné dans un système d'expression approprié,

par mise en culture des cellules hôtes transformées et par isolation de la cholestérol oxydase exprimée à partir du cytoplasme des cellules transformées.

- 5 4. Procédé selon la revendication 3, **caractérisé en ce que** l'ADN utilisé présente, à l'extrémité 5', une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 6, 8, 10, 12, 14 ou 16.
5. ADN selon la revendication 2, **caractérisé en ce qu'il** présente, à son extrémité 5', une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 6, 8, 10, 12, 14 ou 16.
- 10 6. ADN selon la revendication 5, **caractérisé en ce qu'il** présente une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.
- 15 7. Cholestérol oxydase recombinante, **caractérisée en ce qu'elle** est encodée par un ADN selon la revendication 2 et **en ce qu'elle** présente, à son extrémité amino terminale, une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15 ou 17.
8. Cholestérol oxydase recombinante selon la revendication 7, **caractérisé en ce qu'elle** présente une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27 et 29.
- 20 9. Utilisation d'une cholestérol oxydase recombinante selon l'une quelconque des revendications 7 ou 8, dans un test enzymatique pour la détermination de cholestérol.

25

30

35

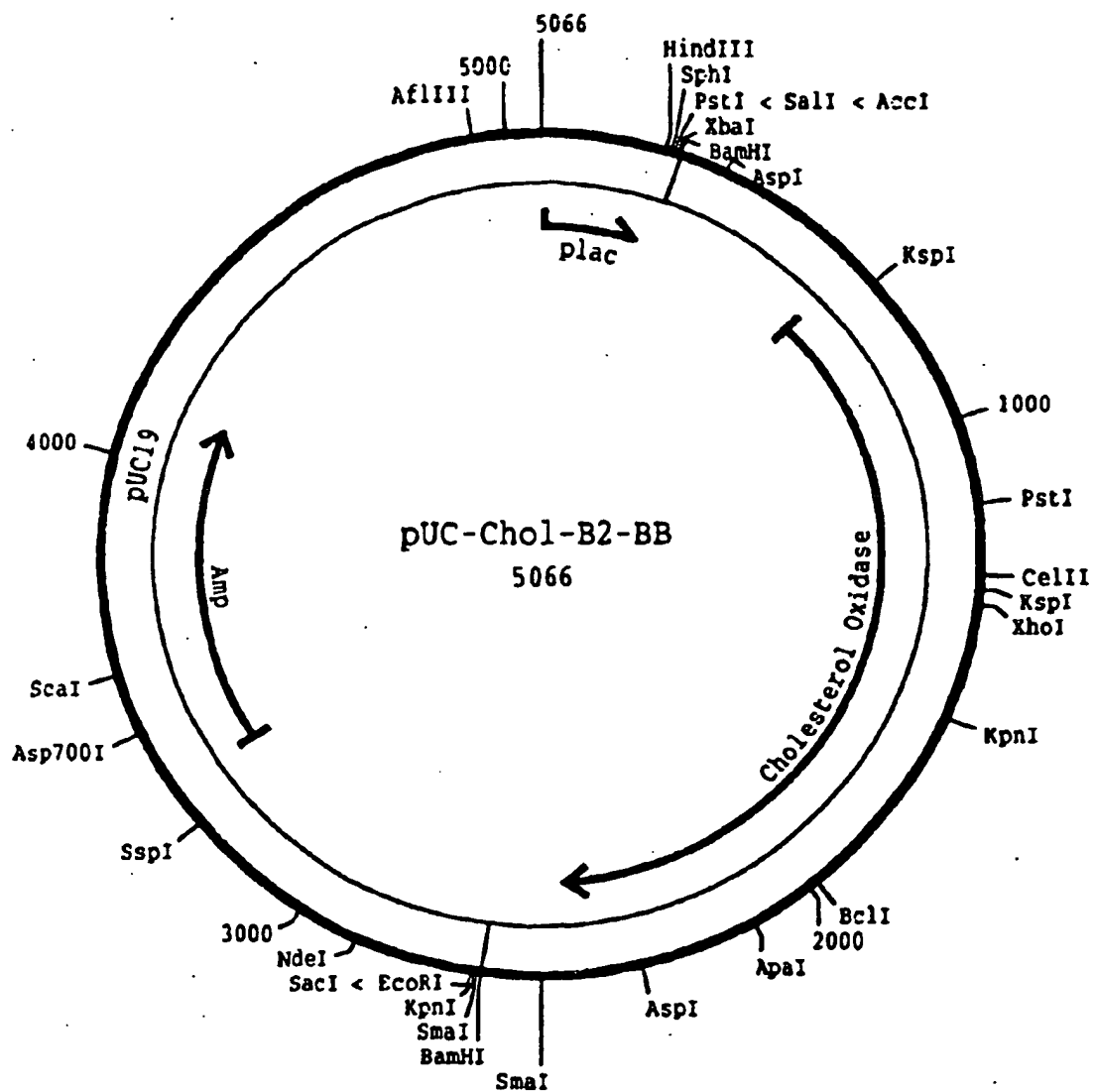
40

45

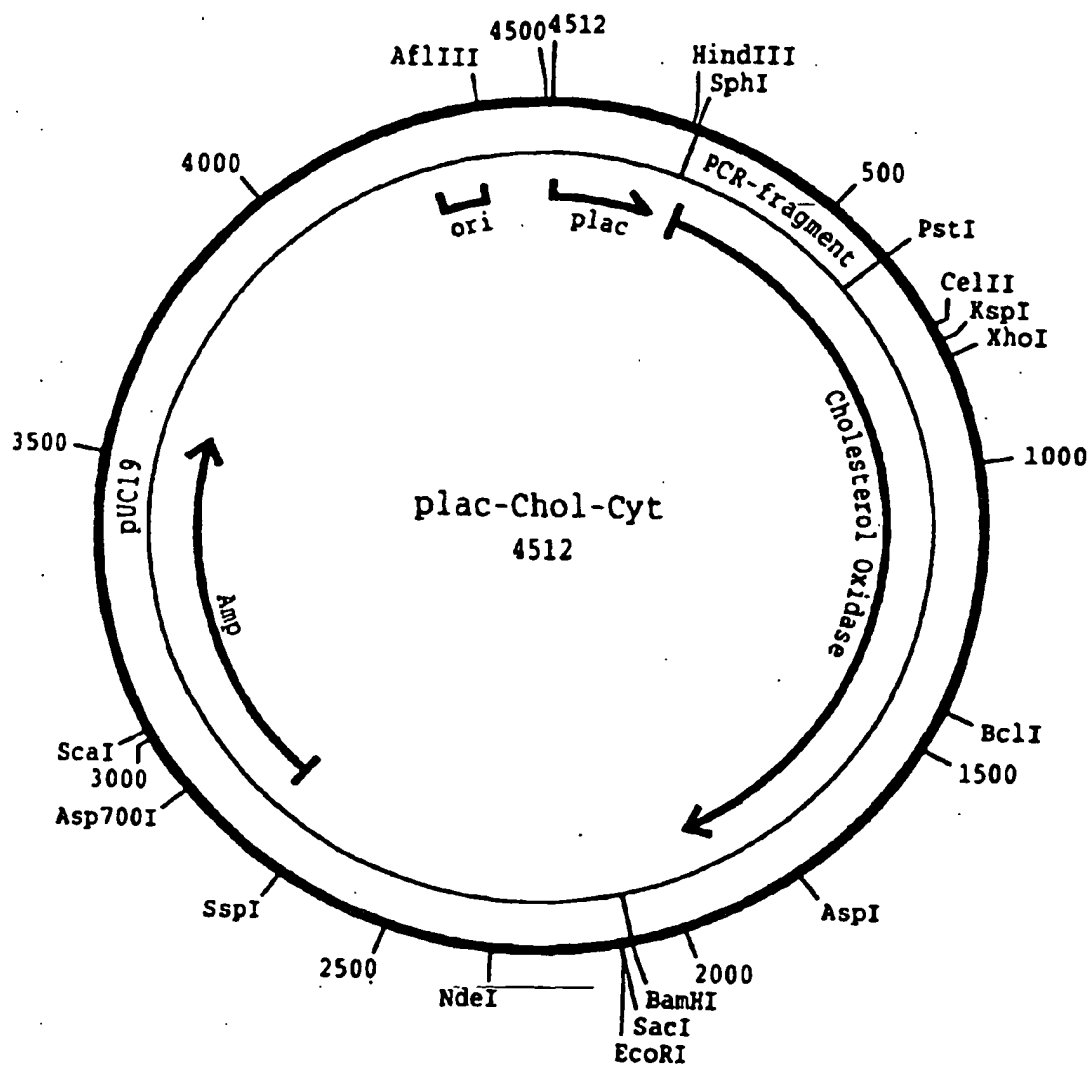
50

55

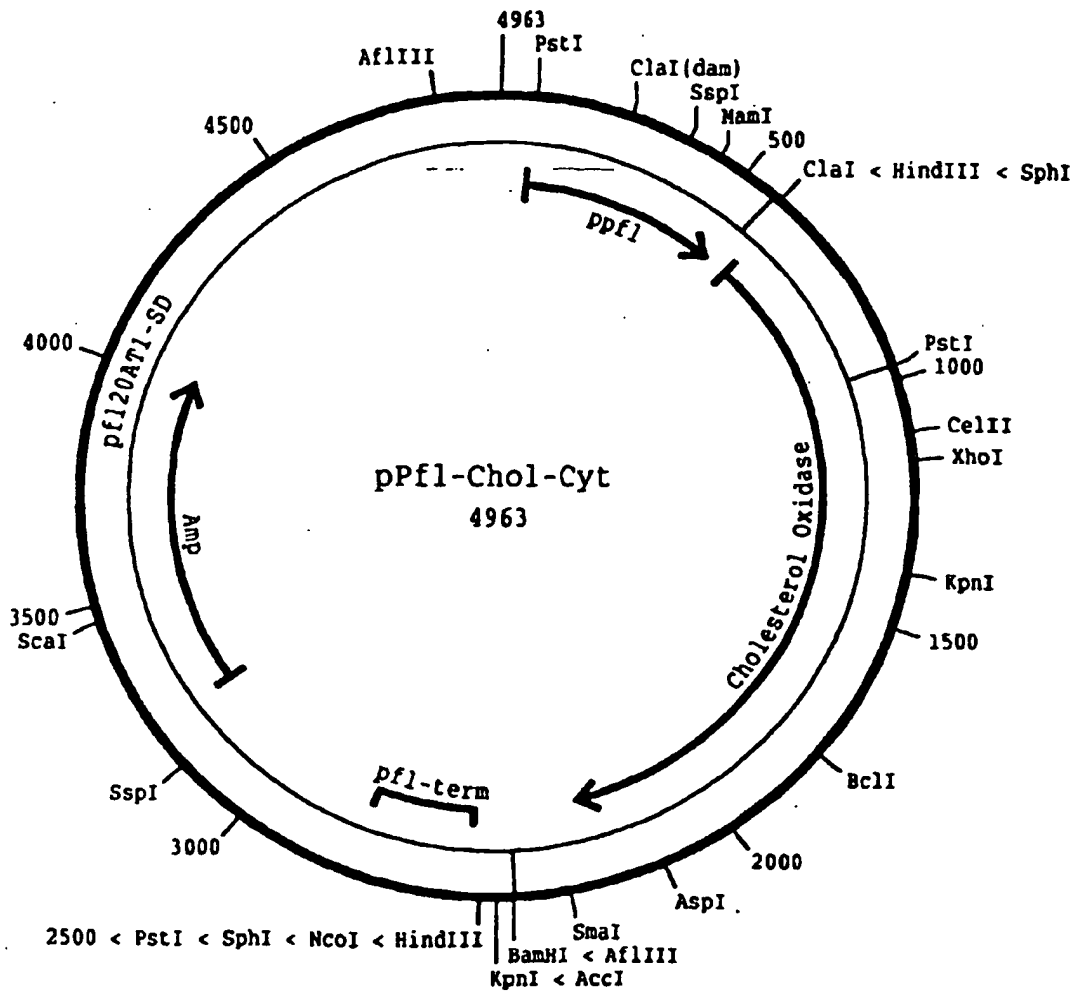
Figur 1



Figur 2



Figur 3



Figur 4

